



TITLE:

長鎖ノンコーディングRNAによる  
マウス胚性遺伝子活性化機構(  
Abstract\_要旨)

AUTHOR(S):

濱崎, 伸彦

---

CITATION:

濱崎, 伸彦. 長鎖ノンコーディングRNAによるマウス胚性遺伝子活性化機構. 京都大学, 2015, 博士(理学)

ISSUE DATE:

2015-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k18837>

RIGHT:

許諾条件により本文は2015/12/31に公開

( 続紙 1 )

京都大学	博 士（理 学）	氏名	濱崎 伸彦
論文題目	長鎖ノンコーディング RNA によるマウス胚性遺伝子活性化機構		
(論文内容の要旨)			
<p>マウスでは受精後に生殖細胞が持っていたエピジェネティックなゲノム情報、すなわちDNAメチル化状態を一新することで、全ての細胞に分化する能力(全能性)を獲得する。この受精後に起きるDNAメチル化の大規模な再編成は、配列非特異的に行われると考えられていたが、最近の次世代シーケンサーを使ったゲノムワイドな解析から遺伝子領域の近傍では配列特異的にDNA脱メチル化が起きていることが明らかとなった。また、最近になって長鎖ノンコーディングRNA (long noncoding RNA, lncRNA) が配列特異的なエピジェネティック変換を引き起こすことが報告されるようになり、本研究では、マウス初期胚における配列特異的なDNA脱メチル化にlncRNAが関与しているかどうかを検証した。</p> <p>ここでは、lncRNAのうち、我々の研究グループによって明らかにされたpromoter-associated noncoding RNA (pancRNA)と呼ばれる、両方向性の遺伝子プロモーター領域から遺伝子とは反対方向に転写されるlncRNAに着目した。pancRNAはいくつかの遺伝子座において、プロモーター領域を配列特異的にDNA脱メチル化し、パートナー遺伝子を活性化することが明かとなっている。そこで本研究では、受精後の遺伝子発現(胚性遺伝子活性化, zygotic gene activation (ZGA))の際にpancRNAが配列特異的に遺伝子活性化に寄与している可能性について検証した。</p> <p>受精前後のマウス初期発生胚を用いて、RNA-seq解析を行い、ZGAにおいてpancRNA群が1,000以上の遺伝子座から転写されていることを明らかにした。そのうち発現量の多い3つのpancRNA(<i>pancI117d</i>, <i>pancMospd3</i>, <i>pancTbc1d22a</i>)について、機能を解析したところ、マウス初期発生においても、pancRNAが配列特異的な脱メチル化を引き起こし、パートナーとなる直下の遺伝子のzygoticな遺伝子発現を引き起こすことが明らかとなった。</p> <p>pancRNAの機能解析において、インターロイキンファミリーの一つである<i>I117d</i>遺伝子をパートナーとするpancRNA(<i>pancI117d</i>)をsiRNA法でノックダウンすると胚盤胞形成不全を引き起こすことが示された。胚盤胞形成期はマウス初期発生において、初めての細胞系列分岐が起こる重要なステージであり、この細胞系列分岐によって多能性を持つ内部細胞塊と胎盤系列細胞の栄養芽層が生み出される。従って、その制御機構の解明は発生学上、極めて重要な課題である。従って<i>pancI117d</i>ノックダウンによる細胞系列分岐への影響を解析した。</p> <p><i>pancI117d</i>ノックダウンにより、<i>I117d</i>遺伝子の発現の上昇が見られなくなり桑実胚期に異所性の細胞死が亢進することで発生致死となることが示された。また、ノックダウン胚に組み換えIL17dタンパク質を添加すると正常発生をレスキューすることができた。さらに、内部細胞塊の培養およびES細胞における<i>pancI117d</i>ノックダウン実験では、内部細胞塊やES細胞の増殖が抑えられた。すなわち、<i>pancI117d</i>は内部細胞塊やES細胞の細胞増殖に不可欠であることが分かった。以上から、<i>pancI117d</i>は<i>I117d</i>遺伝子を活性化することで、初期発生における細胞生存・細胞増殖・細胞運命決定に寄与していることが示された。</p>			

本研究により、両方向性の遺伝子プロモーター領域から遺伝子とは反対方向に転写されるlncRNA (pncRNA) が配列特異的なDNA脱メチル化を引き起こし、受精後に *I117d* 遺伝子などがzygoticな発現を開始して全能性の獲得に寄与していることが明らかにされた。

(続紙 2 )

(論文審査の結果の要旨)

本研究は、近年になって次々と明らかにされてきた新規のnon-coding RNAが、哺乳動物の初期発生に必須な役割を果たしていることを示した重要な研究である。また、その機能を明らかにするために、ゲノムワイドな解析から、マウス受精卵を使つての遺伝子操作実験までしている点も評価の高い理由となっている。特に、発生致死となった*pancIl17d*ノックダウン胚を、そのパートナー遺伝子の遺伝子産物であるIL17dタンパク質を添加することでレスキューすることができた事実は、*pancRNA*の重要性を決定づけた実験となった。本研究によって、*pancRNA*という耳慣れない用語が教科書などで使われるようになることは間違いないものとなった。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成27年1月14日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公表可能日：\_\_\_\_\_